



TITLE:

# Detection of cellular redox status by transient receptor potential channels( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Ogawa, Nozomi

---

CITATION:

Ogawa, Nozomi. Detection of cellular redox status by transient receptor potential channels. 京都大学, 2016, 博士(工学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19751>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

京都大学	博士（工学）	氏名	小川 臨
論文題目	Detection of cellular redox status by transient receptor potential channels (TRP チャネルのレドックス感受性機構の解明)		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞は刻々と変化する環境の中で生存するため、細胞内外の化学的又は物理的な変化を敏感に読み取り、能動的に適応しなければならない。細胞による環境変化の感知は多くの場合、細胞内外の境界である細胞膜に局在する膜タンパク質が担う。この膜たんぱく質の一つとして、Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>などの陽イオンの流入を仲介する非選択的陽イオンチャネルである TRP チャネルが挙げられる。遺伝子相同性解析により、哺乳類では TRP は6つのファミリー（C, V, M, ML, P, A）を形成している。全ての TRP ホモログは6個の膜貫通領域を有しており、5個目と6個目の膜貫通領域の間にイオンを透過させるポア領域がある。TRP チャネルはホモ四量体あるいはヘテロ四量体を形成しており、N 末端と C 末端は細胞内領域に位置している。多くの TRP チャネルは multi-modal な活性機構を有するため、多種多様な刺激により活性化される。</p> <p>最近の研究により、細胞内外の酸化・還元環境は発達、細胞分化、神経変性疾患等において極めて重要な役割を担っていることが解ってきた。TRP イオンチャネルは活性酸素種(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)や活性窒素種(NO)を感知し、活性化することが知られている。神経系に発現している TRPV1 は酸化環境を感知することにより痛覚過敏や筋肉肥大を増悪することが知られており、血管平滑筋に発現している TRPC5 は NO を感知することによって筋収縮を制御していると考えられている。TRP チャネルの酸化感受性は生理的に重要な意味を持っているが、その感受機構は未解明である。本論文は序論、本論4章、結論から構成され、顕著な酸化感受性を保持する TRPV1（第一章、第三章）と TRPC5（第二章）のレドックス感受性機構とその生理的意義の解析に取り組んでいる。</p> <p>序論では、細胞内レドックス環境の重要性、TRP チャネルの説明と先行研究の現状、及び本研究の意義などが記述されている。</p> <p><b>第1章</b>では TRPV1 のレドックス感受性機構を明らかにしている。TRPV1 は末梢神経に多く発現しており、熱、酸、カプサイシン、酸化ストレスといった侵襲的刺激によって活性化し、痛み応答や温度センシングにおいて中心的な役割を果たす。炎症時には活性酸素種が多く産生されるため、TRPV1 の酸化感受性は炎症時に痛み応答を引き起こす。しかし、細胞内での TRPV1 の酸化状態が未解明であるために、その酸化感受性機構の詳細は分かっていない。本章では TRPV1 は細胞内で安定したサブユニット間ジスルフィド結合(Cys258-Cys742)を形成していることを明らかにした。質量分析法により TRPV1 が保持する複数のシステイン残基の酸化感受性を定量したところ、サブユニット間ジスルフィド結合に参与しているシステイン残基(Cys258)は高い酸化感受性を有しており、酸化によるチャネル活性に重要であることが判明した。またサブユニット間ジスルフィド結合で繋がれた TRPV1 二量体上にある Cys258 と Cys742 の酸化状態を検討したところ、酸化型に加えて還元型の両方が双方で検出された。以上のことから、ホモ四量体である TRPV1 は酸化還元状態がヘテロなジスルフィド結合に参与しているシステイン残基を保持するサブユニットと酸化感受性を持つフリーのシステイン残基を保持するサブユニットの双方から構成されていることが示唆された。TRPV1 は定常状態でシステインが既に酸化修飾されており、さらに酸化状態を進行させることでチャネルが開くことが判明した。</p> <p><b>第2章</b>では TRPC5 のレドックス感受性機構を明らかにしている。一酸化窒素(NO)は血管平滑筋の弛緩因子として機能している。NOは血管内皮細胞において ATP 刺激等によって活性化される TRPC5 を介した Ca<sup>2+</sup>流入が引き金となって産生される。さらに TRPC5 が NO によって活性化されることから、</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	小川 臨
<p>TRPC5 の活性と NO 産生はポジティブフィードバックの関係にあると考えられる。本章では血管内皮細胞において TRPC5 は内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) 又はカベオラ（細胞膜の陥凸構造）の主要構造タンパク質 (caveolin-1) と結合することによって、<math>\text{Ca}^{2+}</math> 流入および NO 産生を制御していることを明らかにした。TRPC5 は caveolin-1 と eNOS と結合することによって互いに近接し、<math>\text{Ca}^{2+}</math> 流入と NO 産生の時空間制御を可能にしていると考えられる。</p> <p><b>第 3 章</b> では、炎症時に産生されるプロスタグランジン <math>\text{J}_2</math> が末梢においてシステイン修飾により TRPV1 を活性化し、痛覚過敏を引き起こすことを明らかにした。即ち、TRPV1 遺伝子を欠損させたマウスの神経細胞において、プロスタグランジン <math>\text{J}_2</math> によって惹起される <math>\text{Ca}^{2+}</math> 流入に減少が見られた。さらに TRPV1 欠損型マウスは complete freund's adjuvant (CFA) 炎症性疼痛モデルにおいて痛み応答が緩和されていた。創薬への応用を考えた場合、プロスタグランジン <math>\text{J}_2</math> の標的とする TRPV1 のシステイン残基を保護するという作用機構を持つ鎮痛剤の開発につながるなどが期待できる。</p> <p>結論では本論文で得られた成果について要約している。</p>			

氏 名	小川 臨
-----	------

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、顕著な酸化感受性を保持する TRPV1 と TRPC5 のレッドクス感受性機構とその生理的意義に関する研究をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. 質量分析法により TRPV1 が保持する複数のシステイン残基の酸化感受性を定量し、酸化ストレスによってシステイン残基が直接酸化されることを証明した。さらに TRPV1 は細胞内でサブユニット間のジスルフィド結合を形成しており、異なる酸化修飾を受けているサブユニットによって四量体を形成していることを明らかにした。
2. 血管内皮細胞において NO 感受性を保持する TRPC5 チャネルの活性は eNOS と caveolin-1 との複合体形成によって制御されていることを明らかにした。
3. 炎症時に産生されるプロスタグランジン  $J_2$  が末梢においてシステイン修飾により TRPV1 を活性化し、痛覚過敏を引き起こすことを明らかにした。創薬への応用を考えた場合、プロスタグランジン  $J_2$  の標的とする TRPV1 のシステイン残基を保護するという作用機構を持つ鎮痛剤の開発につながるなどが期待できる。

以上、本論文は、酸化感受性 TRPV1 及び TRPC5 の新規生化学的・生理学的機能について述べたものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 28 年 2 月 22 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公開可能日： 平成 28 年 3 月 23 日以降